



Russian Committee
for Patents and Trademarks

BEST AVAILABLE COPY

(19) RU (11) 2026688 (13) C1

(51) 6 A 61 K 38/00, 47/00

(12) ABSTRACT OF RUSSIAN PATENT

1

(21) 93020152/14

(22) 24.05.93

(46) 20.01.95

(71) (73) Tikhonov A. V., Shcherbakov V. M., Shutov A. V.,
Volodarskij V. I., Devichenskij V. M., Maljugin Eh. F.

(54) **METHOD OF PREPARATION PREPARING
FOR DIRECTED DELIVERY OF ANTITUMOR
DRUGS IN MALIGNANT CELL**

(57) FIELD: medicine. SUBSTANCE: human abortive
material is milled without cell destruction. Prepared

2

mass is extracted with butyl alcohol. Extract is dialyzed
against 0.05M NaCl solution, concentrated up to the
alpha-fetoprotein content 100 mcg/ml and sterilized.
Then preparation is subjected for conjugation with
antitumor drug – doxorubicin with ligand – estrone
taken at the equimolar ratio. Then preincubation of
treated biological material with conjugate is carried out.
EFFECT: improved method of preparing. 5 cl

NB! RU dokumendi venekeelset titellehti ei saa
printida. Kood 56 all toodud andmed on
aiumult venekeelset titelleht
(список документов, цитированных в отчете
о поиске)

(56) Adv. IN CAUCER RES. 1991, 56, 253-312

RU 2026688 C1



**Russian Committee
for Patents and Trademarks**

(19) **RU** (11) **2026688** (13) **C1**

(51) **6 A 61 K 38/00, 47/00**

(12) ABSTRACT OF RUSSIAN PATENT

1

(21) 93020152/14

(22) 24.05.93

(46) 20.01.95

(71) (73) Tikhonov A. V., Shcherbakov V. M., Shutov A. V.,
Volodarskij V. I., Devichenskij V. M., Maljugin Eh. F.

**(54) METHOD OF PREPARATION PREPARING
FOR DIRECTED DELIVERY OF ANTITUMOR
DRUGS IN MALIGNANT CELL**

(57) FIELD: medicine. SUBSTANCE: human abortive
material is milled without cell destruction. Prepared

2

mass is extracted with butyl alcohol. Extract is dialyzed
against 0.05M NaCl solution, concentrated up to the
alpha-fetoprotein content 100 mcg/ml and sterilized.
Then preparation is subjected for conjugation with
antitumor drug – doxorubicin with ligand – estrone
taken at the equimolar ratio. Then preincubation of
treated biological material with conjugate is carried out.
EFFECT: improved method of preparing. 5 cl

RU 2026688 C1

Изобретение относится к медицине и может быть использовано для доставки противоопухолевых лекарств в раковую клетку.

Известно, что одной из важных функций альфа-фетопротеина в эмбрионе млекопитающих является транспорт и связывание женских половых гормонов; при этом эстрон обладает наибольшей аффинностью к альфа-фетопротеину по сравнению с другими натуральными эстрогенами. Кроме этого, обнаружено, что альфа-фетопротеин способен селективно проникать в опухолевые клетки по механизму рецепторного эндоцитоза. На основе этого свойства, а также способности альфа-фетопротеина транспортировать полиненасыщенные жирные кислоты, доктором Дейчем из Мадисоновского университета (США) разработан способ противоопухолевой химиотерапии некоторых видов злокачественных новообразований человека. В качестве транспортного белка в этом способе использовался альфа-фетопротеин, секретируемый клетками первичного рака печени.

На этом фоне больному вводили конъюгат арахидоновая кислота-доксорубицин. Полный курс составлял 10 внутривенных введений конъюгата. При попадании в опухолевую клетку доксорубицин в составе конъюгата с арахидоновой кислотой активировался НАДФН (НАДН)-зависимыми оксидоредуктазами с образованием высокореакционных способных продуктов, выступающих прямыми алкиляторами и/или инициаторами реакций перекисного окисления липидов. Эти процессы обуславливали цитостатический эффект.

Цель изобретения – создание универсального способа доставки противоопухолевых лекарств в раковую клетку.

Поставленная цель достигается тем, что в качестве фетального биологического материала используют абортивный материал. Измельчают его с сохранением структуры клеток. Полученную массу подвергают экстракции бутиловым спиртом. Экстракт диализуют против 0,05 М раствора NaCl и концентрируют экстракт до содержания альфа-фетопротеина 100 мкг/мл, после чего стерилизуют. Проводят химическую конъюгацию против опухолевого лекарства – доксорубицина с лигандом – эстроном. Причем доксорубицин и эстрон конъюгируют в эквимольном соотношении. Затем проводят прединкубацию путем смешивания обработанного экстракта с 20 мг конъюгата за 1–2 ч до внутривенного введения. Содержание альфа-фетопротеина в экстракте определяют с помощью иммуноферментного анализа.

Способ поясняется на следующем примере.

П р и м е р. Абортивный материал человека, содержащий альфа-фетопротеин, собирают на 10–12 неделе беременности с соблюдением требований антисептики. Собранный материал тестировали на присутствие HBSAg и HIV. После этого

абортивный материал измельчали с сохранением структуры клеток, полученную массу экстрагировали бутиловым спиртом в отношении 1: 50 в течение 24 ч

при температуре + 4°С. Полученный экстракт диализовали против 0,05 М раствора хлорида натрия и концентрировали на концентраторе с использованием мембран PM10 (концентратор Amicon, США) до концентрации альфа-фетопротеина 100 мкг/мл. Полученный концентрат стерилизовали на мембранах 0,22 и 0,17 мкм, помещали в стерильные

флаконы и хранили при – 20°С вплоть до использования. Доксорубицин и эстрон 3-хемисукцинат использовали в эквимольном соотношении. Полученный конъюгат стерилизовали и хранили при –

20°С вплоть до использования. Непосредственно за 1–2 ч до внутривенного введения концентрат и конъюгат смешивали. Для одной инъекции использовали 100 мл концентрата и 20 мг конъюгата. Содержание альфа-фетопротеина в концентрате определяли методом иммуноферментного анализа (IFA) с использованием наборов фирмы "АС". Общий курс составлял обычно 6 инъекций (3 раза через день с интервалом в одну неделю).

Предлагаемый способ предусматривает использование при химиотерапии специальным образом обработанного альфа-фетопротеина в составе экстракта из абортивного материала человека. Этот специальным образом обработанный белок имеет высокую аффинность к женскому половому гормону эстрогену. Кроме этого, пациенту вводят в отличие от описанного способа примерно в 10 раз больше транспортного белка по сравнению с тем, что присутствует в крови больного первичным раком печени (< 200 нг/мл). Благодаря использованию экзогенного альфа-фетопротеина химиотерапевтическое воздействие строго контролируется по количеству вводимого альфа-фетопротеина. Возможность предварительного смешивания концентрата альфа-фетопротеина с конъюгатом позволяет получать более высокие стационарные концентрации тройного комплекса альфа-фетопротеин-эстрон-доксорубицин. Использование альфа-фетопротеина в качестве транспортного белка позволяет существенно пролонгировать действие доксорубицина из-за снижения скорости его выведения из организма больного. Универсальность предложенного метода позволяет использовать его при лечении практически всех видов злокачественных новообразований человека и применять другие противоопухолевые лекарства. Кроме этого, метод может найти применение при лечении таких заболеваний, как синдром приобретенного иммунодефицита и некоторых заболеваний центральной нервной системы, таких, например, как болезнь Паркинсона.

Формула изобретения

1. СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВ В РАКОВУЮ КЛЕТКУ путем обработки фетального биологического материала человека, содержащего альфа-фетопротеин, химической конъюгации противоопухолевого лекарства с лигандом и прединкубации обработанного биологического материала с конъюгатом, отличающийся тем, что в качестве фетального биологического материала человека используют абортивный материал, который измельчают с сохранением структуры клеток, полученную массу подвергают экстракции бутиловым спиртом, экстракт диализуют против 0,05 М раствора NaCl и концентрируют экстракт до содержания альфа-

фетопротеина 100 мкг/мл, после чего стерилизуют, причем прединкубацию проводят путем смешивания обработанного экстракта с 20 мг конъюгата за 1–2 ч до внутривенного введения.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве противоопухолевого лекарства используют доксорубин (адриамицин).

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве лиганда используют эстрон.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что содержание альфа-фетопротеина в экстракте определяют с помощью иммуноферментного анализа.

5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что доксорубин и эстрон конъюгируют в эквимольном соотношении.